

Efecto del horno de microondas sobre el crecimiento y sobrevivencia de *Escherichia coli* O157:H7 inoculada en tortas de carne de res

Oscar Quesada, María Laura Arias y Carolina Chaves

Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología. Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET).

RESUMEN. En los últimos años, el uso del horno de microondas dentro de la industria alimentaria ha ganado popularidad. Entre sus usos se incluye el descongelar, secar y cocinar alimentos, mas la inactivación de microorganismos que pueda o no ejercer este tipo de tratamiento es tema de discusión mundial. Por otro lado, la *Escherichia coli* O157:H7 representa un patógeno emergente, de distribución mundial y asociado a alimentos. Su resistencia a ambientes adversos ha sido ampliamente discutida. El propósito de este estudio fue determinar el efecto de diferentes tiempos e intensidades de cocimiento del horno de microondas sobre la sobrevivencia de esta bacteria en tortas de carne de res. Las tortas de carne fueron inoculadas con una población alta (10^7 - 10^9 UFC/mL) o baja (10^5 - 10^7 UFC/mL) de *E. coli* O157:H7, mantenidas en congelación por 3 días a -4°C y posteriormente descongeladas en un horno Whirlpool según su peso. Fueron sometidas a niveles de potencia de 70%, 80%, 90% y 100% por períodos de 30, 60, 90 y 120 segundos. Se determinó en cada muestra la tasa de sobrevivencia de la bacteria inoculada de acuerdo a la metodología descrita en Vanderzant & Splittstoesser. Según los resultados obtenidos, la tasa de destrucción de las bacterias analizadas fue significativa ($p < 0.005$). El número de bacterias presentes en las tortas de carne disminuyó dramáticamente a medida que aumentaba el tiempo y la temperatura de exposición, no obstante, para eliminar totalmente el microorganismo inoculado se necesitó de una exposición prolongada produciendo características organolépticas indeseables en el alimento.

Palabras clave: *Escherichia coli* O157:H7, horno de microondas, sobrevivencia, carne

SUMMARY. Effect of microwave oven over the growth and survival of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated in bovine minced meat samples. The use of microwave ovens in food industry is a growing trend. It is used for thawing, drying and cooking food, but the microorganism's inactivation that this treatment may exert or not is still a subject of worldwide discussion. At the same time, *Escherichia coli* O157:H7 now presents itself as an emerging pathogen, distributed worldwide and associated with food. Its resistance to adverse environments has been widely discussed. The purpose of this work was to determine the effect of different times of exposure and cooking intensities of microwave oven on the survival of this bacterium inoculated into minced meat samples. These were inoculated with a high (10^7 - 10^9 CFU/mL) or low (10^5 - 10^7 CFU/mL) population of *E. coli* O157:H7, frozen for 3 days at -4°C and thawed in a Whirlpool microwave oven according to their weight. They were radiated at levels of 70%, 80%, 90% and 100% for periods of 30, 60, 90 and 120 seconds. In each sample the rate of survival of the bacteria was determined according to the methodology described by Vanderzant & Splittstoesser. The results obtained showed that the rate of destruction of the bacteria analyzed was significant ($p < 0.005$). The number of bacteria present in the meat samples diminished dramatically as the exposure time and temperature increased, even though, for the complete elimination of this microorganism, a prolonged exposure was necessary, even though it did cause undesirable organoleptic characteristics in the food samples.

Key words: *Escherichia coli* O157:H7, microwave oven, survival, meat

INTRODUCCION

En los últimos años, el uso del horno de microondas dentro de la industria alimentaria, establecimientos de comida rápida, instituciones públicas y hogares ha ganado popularidad al permitir cocinar y/o recalentar alimentos en el menor tiempo y de la manera más económica. Entre sus usos se incluye el descongelar, secar y cocinar alimentos, mas la inactivación de microorganismos que pueda o no ejercer este tipo de tratamiento es tema de discusión mundial (1,2).

Diversos trabajos citan la reducción en el número de microorganismos al ser tratados con microondas, incluyendo pavo, carne, leche de soya, pollo, papa y alimentos congelados (3-5), pero no su destrucción total; otros estudios citan la sobrevivencia de microorganismos a este tipo de tratamiento, incluyendo bacterias tan importantes en Microbiología de Alimentos como *Salmonella* (6) *Clostridium perfringens* y *Bacillus cereus* (2,7).

Escherichia coli O157:H7 representa un patógeno emergente, y de distribución mundial. Fue por primera vez reconocido como patógeno de origen alimentario en 1982,

cuando fue asociado a dos brotes de colitis hemorrágica en los Estados Unidos (8). Además de este cuadro clínico, puede presentar otros dos tipos de manifestación, incluyendo púrpura trombocitopénica y síndrome urémico hemolítico (9-11).

Esta bacteria puede ser transmitida por alimentos o agua, directamente de persona a persona y ocasionalmente por exposición ocupacional (12). La mayoría de brotes alimentarios han sido asociados a alimentos derivados del ganado, especialmente carne molida y leche cruda (13), no obstante, frutas, vegetales y alimentos derivados de otras especies animales también pueden transmitir este patógeno.

La frecuencia de recuperación de esta bacteria a partir de alimentos es muy baja, así como bajo es el nivel de contaminación de alimentos asociados a brotes (10-6200 UFC/g) (14) y la dosis infecciosa descrita (tan baja como 2 células/25g).

También, están bien descritas en la literatura las características de resistencia y sobrevivencia de esta bacteria ante ambientes adversos. Diversos estudios indican la reducción en 1-2 logaritmos en el número de *E. coli* O157:H7 presente en alimentos fermentados o secados (15), refieren también la capacidad de multiplicarse a muy bajas temperaturas, aún congelación (16) y su resistencia a ambientes de baja actividad de agua (aw) (17) y pH (18-19).

Dado que la carne molida mal cocida o cruda ha sido descrita como el principal vehículo de transmisión de esta bacteria (20), y que en Costa Rica ha habido al menos siete casos clínicos relacionados con esta bacteria (21), así como que el cocinar en horno de microonda ofrece cortos períodos de calentamiento y menos tiempo de exposición al calor que el tratamiento convencional, se propone el presente estudio, cuyo objetivo es estudiar el efecto de diferentes tiempos y poderes de cocción del horno de microondas sobre la sobrevivencia de *E. coli* O157:H7 inoculada en tortas de carne de res.

MATERIALES Y METODOS

Ubicación

El proyecto se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Aguas de la Facultad de Microbiología entre julio y diciembre del 2001.

Alimento

Los ensayos se realizaron sobre muestras de carne molida adquiridas en supermercados ubicados en el área metropolitana de San José, Costa Rica. Todos los ejemplares fueron mantenidos entre 2 y 5°C entre el tiempo de compra y su análisis, el cual no excedió las 4 horas y tratados en forma aséptica con el fin de no aumentar su carga. En cada caso se corrió a la vez un blanco de muestra con el fin de evaluar la flora natural del producto y descartar la presencia de *E. coli* O157:H7

Inóculo

Se utilizó una cepa de *Escherichia coli* O157:H7 de origen clínico para los análisis. Esta fue mantenida a -70°C en agar tripticase soya (Oxoid) y activada en caldo tripticase soya (pH 7,0) a 35°C por 24 horas. Esta última suspensión fue considerada como la población alta (10^7 - 10^9 UFC/mL) de *E. coli* O157:H7 utilizada para inocular los alimentos. Una suspensión de población baja (10^7 - 10^7 UFC/mL) fue preparada agregando 1 mL de la suspensión de población alta a 99 mL de caldo tripticase soya.

Inoculación de la carne

Aproximadamente 1 kg de carne molida colocado dentro de una bolsa de polietileno estéril fue inoculado con 50 mL de la suspensión de población alta de *E. coli* O157:H7. Este fue homogenizado por 2 min en un masticador (Stomacher) e inmediatamente dividido en tortas de 50 g cada una, todas con igual diámetro y espesor. Las tortas fueron congeladas a -4°C por 72 horas y después fueron procesadas en horno de microondas, simulando el uso industrial, hotelero o doméstico del producto.

Una porción de 25 g de carne fue tomada antes de la inoculación con el fin de realizar un recuento inicial de *E. coli* O157:H7.

El mismo procedimiento fue realizado con otros 1000 g de carne molida, pero inoculados con 50 mL de la suspensión de población baja de *E. coli* O157:H7. Cada análisis fue realizado en tres ocasiones diferentes.

Protocolo de cocimiento

Se utilizó un horno de microondas Whirlpool modelo MT 11515 GQ-O con diez niveles de energía para descongelar y cocinar las muestras. Se procedió a descongelarlas individualmente según su peso, después de lo cual fueron sometidas a 70% (76,7°C), 80% (82,8°C), 90% (87,8°C) y 100% (93,3°C) de poder durante 30, 60, 90 y 120 segundos cada una. Se utilizó una muestra control sin inocular (blanco de carne) y otra inoculada pero no tratada con microondas, como controles.

Cuantificación de los microorganismos

Para la determinación microbiológica se siguió la metodología de Número Más Probable (NMP) según se describe en Vanderzant & Splittstoesser (22). Brevemente, luego del proceso de cocción, 25 g de cada muestra fueron resuspendidos en 225 mL de agua peptonada estéril (APE) 0,1% y de nuevo homogenizados en Stomacher por 2 minutos. A partir de esta suspensión se preparó diluciones decimales hasta 10^{-7} en tubos con 9 ml APE 0,1%. Se enriqueció cada dilución, por triplicado en caldo *Escherichia coli* (EC) + novobiocina incubado por 24 h a 35°C. Se confirmó el crecimiento utilizando agar McConkey

sorbitol + 4-metil umbeliferil β D glucorónido (MUG) 0,2 g/L (Oxoid) incubado a 35°C por 24 h.

Evaluación de la sobrevivencia de las bacterias

Se evaluó la sobrevivencia de las bacterias relacionándola con el poder (temperatura de cocción) y tiempo de cocción.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se detalla el comportamiento de la población alta de *E. coli* O157:H7 al ser tratada con diferentes intensidades de poder en el horno de microondas. La carga inicial fue de 10^7 NMP/g, la cual se mantiene a los 30 s para los poderes 70%, 80% y 90%. En la intensidad de 100% hay un descenso de un logaritmo en el número de microorganismos en este lapso de tiempo. A los 60 s de tratamiento, en las intensidades de 90% y 100% ya no se detecta microorganismos viables. Para el 70% de poder se necesita más de 120 s para inactivar las bacterias presentes.

La población baja (10^5 NMP/g) necesitó de 60 s a 90% de poder y 90 s a 80% de poder para ser no detectable. A 70% de poder se necesita más de 120 s para inactivar las bacterias presentes (Tabla 2).

TABLA 1
Sobrevivencia de *E. coli* O157:H7 (NMP/g) a diferentes tiempos y niveles de cocimiento (Población alta)

Poder de cocimiento	Tiempo de exposición (s)				
	0	30	60	90	120
70%	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$
80%	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$3,5 \times 10^5$	<3	<3
90%	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	<3	<3	<3
100%	$1,0 \times 10^7$	$4,4 \times 10^6$	<3	<3	<3

TABLA 2
Sobrevivencia de *E. coli* O157:H7 (NMP/g) a diferentes tiempos y niveles de cocimiento (Población baja)

Poder de cocimiento	Tiempo de exposición (s)				
	0	30	60	90	120
70%	$1,0 \times 10^5$	$6,0 \times 10^3$	$9,1 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$
80%	$1,0 \times 10^5$	$1,1 \times 10^3$	$2,5 \times 10^1$	<3	<3
90%	$1,0 \times 10^5$	$1,1 \times 10^1$	<3	<3	<3
100%	$1,0 \times 10^5$	$1,1 \times 10^1$	<3	<3	<3

DISCUSION

Son muchas las investigaciones realizadas a nivel mundial sobre el efecto de hornos de microondas en la sobrevivencia de bacterias patógenas inoculadas en diferentes alimentos. Los resultados son contradictorios, mostrando variaciones

importantes según sea la composición del alimento, el microorganismo evaluado y hasta la fase de crecimiento en que éste se encuentre (3-7). Algunos autores como Fujikawa *et al.* citan que este tratamiento es equivalente al cocimiento convencional en lo que respecta a inactivación de microorganismos (23). Otros, como Rosenberg y Bogl citan en su estudio diferentes grados de eficiencia entre el cocimiento tradicional y el de microondas de hasta dos logaritmos en la tasa de muerte de bacterias Gram positivas y Gram negativas (24).

Según los resultados obtenidos, la tasa de destrucción de las bacterias analizadas fue significativa ($p < 0,005$). El número de bacterias presentes en las tortas de carne disminuyó dramáticamente a medida que aumentaba el tiempo y la temperatura de exposición, tanto para población alta como para la baja. No obstante, se necesitó de largos períodos de exposición al tratamiento térmico para llegar a eliminar completamente la bacteria inoculada.

Estudios previos realizados con este mismo modelo de torta de carne tratada en horno de microondas determinaron, a través del indicador enzimático de inhibición de la fosfatasa ácida, que se necesita al menos 60 s de tratamiento (independiente del poder utilizado) para considerar al alimento enzimáticamente cocinado. Es decir, luego de 60 s de tratamiento térmico en microondas desaparece esta enzima, lo cual coincide con las características organolépticas de carne cocinada en todo su espesor (25). Para las muestras analizadas en el presente trabajo, en promedio se necesitó de un tiempo mayor de cocimiento al descrito para eliminar totalmente el microorganismo inoculado (población alta y baja), lo cual provoca que la torta de carne presente características organolépticas indeseables como son la resequecedad y dureza.

Los resultados obtenidos permiten evidenciar que la efectividad de este tipo de tratamiento es inversamente proporcional al número inicial de microorganismos, no obstante, las temperaturas internas alcanzadas en los alimentos no garantizan la esterilización de los mismos (26). La distribución de calor que presentan los hornos de microondas no es homogénea (27), por lo que un aumento en la temperatura no es del todo uniforme. Además, dada la presencia de proteínas y grasa en el alimento, existe mucha fluctuación en las temperaturas internas del alimento (28).

Estudios similares llevados a cabo con *E. coli* O157:H7 inoculada en carne cruda demuestran que se da una reducción importante en el número de microorganismos presentes al cocinar con microondas, lo cual permite extender el tiempo de preservación del alimento (29), mas el efecto de las microondas sobre esta bacteria varía según sea la dosis de irradiación utilizada, así como la temperatura interna alcanzada (30). Es importante destacar que dadas las características de patogenicidad de esta bacteria y su baja

dosis infectante (<50 UFC/g), su simple presencia en alimentos procesados es totalmente inaceptable (31).

Aún cuando los niveles de inoculación utilizados en este estudio son poco probables de ocurrir, se puede concluir que la carne contaminada con *E. coli* O157:H7 representa un riesgo para la salud pública aún cuando se mantenga a temperatura de congelación y luego se cocine en microondas. Al igual que con otros microorganismos patógenos, este tipo de tratamiento térmico no es efectivo para su eliminación a partir de alimentos contaminados. La implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) así como de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP) en la producción de alimentos y su preparación puede ayudar a controlar esta bacteria.

Por otra parte es imprescindible que el consumidor esté informado del riesgo a la salud asociado al consumo de carne que no esté bien cocinada o que solamente sea calentada antes de su consumo.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Laura Villalobos su valiosa ayuda. Este trabajo recibió apoyo financiero de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, proyecto 430-99-214.

REFERENCIAS

- Rosenberg U, W Bogl. Microwave thawing, drying and baking in the food industry. *Food Technol.* 1987;41: 85-91.
- Rosenberg U, W Bogl. Microwave pasteurization, sterilization, blanching and pest control in the food industry. *Food Technol.* 1987;41: 92-99.
- Aleixo D, B Swaminathan, K Jamerssen, D Pratt. Destruction of pathogenic bacteria in turkeys roasted in microwave ovens. *J Food Sci.* 1985;50: 873-880.
- Farber J, J Aoust, M Diotte, A Sewell, E Daley. Survival of *Listeria* spp. on raw whole chickens cooked in microwave ovens. *J Food Prot.* 1998;61: 1465-1469.
- Lin W, C Sawyer. Bacterial survival and thermal responses of beef loaf after microwave processing. *Int. Microw. Power Inst.* 1988;23:183-194.
- Dealler R, R Lacey. Microwave reheating of convenience meals. *British Food J.* 1990;92: 19-22.
- Buono M, F Niroomand, Y Fung, L Erickson. Destruction of indigenous *Bacillus* spores in soymilk by heat. *J Food Prot.* 1989;52: 825-826.
- Riley L, R Remis, S Hengerson, H McGee, J Wells, B Davis, R Herbert, E Olcott, L Johnson, N Hangrett, P Blake, M Coher. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* O157:H7. *Epidem. Infect.* 1995;115: 447-454.
- Doyle M, V Padhey. *Escherichia coli*. In MP Doyle (ed). *Foodborne Bacterial Pathogens*, Marcel Dekker, New York. 1989;225-281.
- Doyle M. *Escherichia coli* O157:H7 and its significance in foods. *Int. J Food Microb.* 1991;12: 289-302.
- Anonymous. Consensus conference statement. *Escherichia coli* O157:H7 infections. An emerging national health crisis. *Gastroenterology.* 1995;108: 1923-1934.
- Mead P, P Griffin. *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet.* 1998;352: 1207-1212.
- Griffin P. *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: Blaser MJ, Smith PD, Raudin JJ, Greenberg HB, Guerrant RL, eds. *Infections of the gastrointestinal tract.* New York: Raven Press, 1995;739-761.
- Todd E, R Szabo, P Peterkin, A Sharpe, L Parrington, D Bundle, M Gidney, M Porry. Rapid hydrophobic grid membrane filter enzyme labeled antibody, procedure for identification and enumeration of *Escherichia coli* O157 in foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 1988;54:2536-2540.
- Heuvelink A, J Zwartkruis-Nahuis, R Beume, E de Boer. Occurrence and survival of Verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157 in meats obtained from retail outlets in the Netherlands. *J. Food Prot.* 1999;62:1115-1122.
- Doyle M, J Schoeni. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl Environ Microbiol* 1987;53:2394-2396.
- Abdul-Raouf U, L Beuchat, S Amman. Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ground, roasted beef as affected by pH, acidulants and temperature. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993;59:2364-2368.
- Zhao T, M Doyle, R Besser. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservative. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993;59: 2326-2530.
- Miller T, W Kaspar. *Escherichia coli* O157:H7 acid tolerance and survival in apple cider. *J. Food Prot.* 1994;57: 460-464.
- Thayer D, G Boyd. Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in meats by gamma irradiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993;59: 1030-1034.
- Herrera ML. Incidencia de casos de *Escherichia coli* O157:H7 en Costa Rica. Laboratorio de Bacteriología, Hospital Nacional de Niños, 56, 1998.
- Vanderzant & Splittstoesser. *Compendium of methods for the microbiological examination of food.* APHA, 1992.
- Fujikawa H, H Usuioda, Y Kudo. Kinetics of *Escherichia coli* destruction by microwave irradiation. *Appl Environ Microbiol.* 1992;58: 920-924.
- Rosenberg U, W Bogl. Der Einfluss der Microwellerhitzung auf den Keimgehalt von Lebensmitteln. *Fleischwirtschaft.* 1982;69: 1182-1187.
- Arias ML, M Jiménez, F Antillón. Efecto de microondas sobre *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp., inoculadas en carne molida congelada. *Arch Lat Nut.* 47, 1997.
- Atmaca S, Z Akdag, S Dasdag, S Celik. Effect of microwaves on survival of some bacterial strains. *Acta Microbiol. Immunol. Hugn.* 1996;43: 371-378.
- Lackey C. *Microwave cooking do's and don'ts, the notebook of food safety information.* North Carolina, North Cooperative Extension Service, 1994.

28. Baldwin R, M Fields, W Poon, B Korshgen. Destruction of *Salmonellae* by microwave heating of fish with implications for fish products. J. Milk Food Technol. 1971;34: 467-470.
29. Woo I, I Rhee, P Heui-Dong. Differential damage in bacterial cells by microwave radiation on the basis of cell wall structure. Appl. Environ. Microbiol. 2000;66:2243-2247.
30. Thayer D, G Boyd. Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in meat by gamma irradiation. Appl Environ Microbiol. 1993;59: 1030-1034.
31. Anonymous. Modernas técnicas de control de la calidad de alimentos procesados. Procesador. 1997;16: 400-429.

Recibido: 04-03-2002

Aceptado: 23-12-2002